

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE GEOQUÍMICA



Implicaciones del grado de contaminación por crudo en la mineralización potencial de nitrógeno en suelos de diferentes texturas, colectados en el sur del estado Anzoátegui.

**Trabajo Especial de Grado  
presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de  
Venezuela por la Br. Doraly  
Kenya Maucó Toro para optar  
al Título de Licenciado en  
Geoquímica.**

**Caracas, Septiembre 2008**



Implicaciones del grado de contaminación por crudo en la mineralización potencial de nitrógeno en suelos de diferentes texturas, colectados en el sur del estado Anzoátegui

---

---



Quiero dedicarle este Trabajo Especial de Grado, a mi mamá, a mi papá y a Dios esto es de ustedes, sin estas personitas nunca habría logrado convertirme en toda una LICENCIADA EN GEOQUIMICA.

Y por supuesto a la Institución que me permitió desarrollar este trabajo de investigación, el IVIC gracias, eres una segunda casa de estudio para mi.



Después de 38 materias, varias salidas de campo, muchas horas de servicio comunitario, unas pasantía, un trabajo especial de grado, infinitos momentos de alegría y un montón mas de tristezas, hoy tengo innumerables recuerdos desarrollados durante mis casi 6 años de estudio en la Facultad de Ciencias de la UCV. Este logro me llena de muchísima satisfacción y se que también a bastantes personas a mi alrededor, que como yo digo me quieren bonito.

Yo no soy muy buena para estas cosas, pero este espacio se lo quiero dedicar a las personas que de alguna u otra manera me han ayudado a lograr esta meta, con un granito o un kilo de arena jajaja:

Te agradezco diosito por darme fuerzas cuando mas lo necesitaba, mandando a la persona indicada en el momento preciso, darme mucha salud durante toda mi vida....

A las personitas mas importantes para mi “MI MAMA, MI PAPA y MI ABUELITO” sin ustedes no habría logrado nunca cumplir con este hecho, su apoyo siempre incondicional en todos los aspectos, son mi modelo a seguir. Quiero aprovechar para recordarles que los ADORO y que son los mejores padres de todo el mundo. Para ser un poquito mas especifica: MAMI gracias por ser mi compinche, mi confidente, mi amiga y darme tanto animo en todo momento, PAPI bueno me ayudaste desde el primer día de clases, estudiaste conmigo y siempre siempre pude contar contigo para todo; como siempre les he dicho pa’ que hermanos si con uds lo tengo todo; viejitos su niña chiquita ya se esta graduando =) y todo esto es gracias a ustedes. Solo ahora hay una diferencia soy su “LIC” pero toda la vida seré su pequeñita.

Durante mi carrera pase un montón de momentos inolvidables, junto a personas que se merecen un espacio en mi corazón y que quedara plasmado en estas líneas:

El grupo con que entre a la uni y que ahora tengo la dicha de poder cumplir este sueño juntos: YENI “lok” siempre pendiente de todos los detalles que como cosa rara yo olvidaba; MAI con tus consejos “firifiri” me ayudaste un montón de veces siempre viendo las cosas objetivamente; JAVIER tantos años conociéndonos y siempre pude contar con tu ayuda para lo que estaba a tu alcance, pero siempre listo con unas bonitas palabras. Y todos nosotros formando un buen grupo de estudio (bueno cuando las muchachas y yo no nos poníamos a leer revistar, a comer o echar cuento jajaja).

LILITA naguara amiguita sabes que te aprecio y quiero muchísimo, ni me acuerdo cuantas veces fueron las que estudiamos, que me aconsejaste, que lloramos, que reímos y que creímos que no se podía, pero mira, te tengo noticias, claro que se puede!!! Y yo se



que muy pronto estarás preocupándote pero por como vas a escribir tus agradecimientos en la TEG, muchas gracias =)

A las muchachonas, LA CHIQUI, INDRA, JOS, ANGIE con ustedes he compartido mas que todo el otro lado BUENO de la uni jajaja (como siempre echando cuento) punto muy importante para completar mis buenos recuerdos en la Facultad.

TECHI te conocí prácticamente a mitad de mi carrera, compartimos campo, yo diría que una de las etapa mas duras, desde esa fecha te he agarrado muchísimo cariño y me haz ayudado en todo momento incondicionalmente y siempre siempre tienes un buen consejo que dar, como ya te lo he dicho eres como mi hermana, te quiero un montón, gracias de corazón...

MARI, ALE, RUT gracias a su ayuda estoy compartiendo este sueño con ustedes =) (menos mal que solo fue un susto jajaja)

LUIYIN!!! Que te puedo decir, estudiamos juntos, compartimos muchos momentos durante la carrera, eres una persona que admiro muchísimo, eres súper inteligente, buena persona, siempre dispuesto a ayudarme en cualquier época o etapa de mi vida (hasta aguantarte con mai mis cosas en el SC jajaja) créeme tu te ganaste un espacio en mi corazón... Muchísimas buenas notas, alegrías, risas y buenos recuerdos te lo debo a ti. Te quiero mucho...

Mi GORDO has sido un apoyo en muchos aspectos de mi vida, personal (cada consejo, cada palabra, cada risa, cada momento bonito) académico (cuando “estudiabamos” geoquímica en verano jeje, cuando recorríamos los conglomerados en campo, y lo usábamos de tobogán jeje), nos conocemos desde el liceo, pero aquí en la uni valore muchísimo mas tu amistad, se nota que no quieres nada malo para mi y eso es difícil conseguirlo en una persona, soy muy afortunada de poder contar con personas como tu =) tienes una virtud: con solo oírte reír logras q se me salga una de esas carcajadas más jajaja... Tengo muuuuuuuuchos recuerdos de cosas que pasamos en la uni o en camino a ella (como las loqueras en el metrobús jajaja) GRACIAS por alegrarme en toooodo momento. Te quiero HERMANITO... tu Kenya ya es licenciada =)



Ya finalizando mi carrera conocí a un grupo muy especial del Lab. De Ecología de Suelos del IVIC: BELKIS, DIANA, MAIELLA, EDWIN, EDGARDO, MILDRED; ustedes se aguantaron mis loqueras por bastante tiempo, me apoyaron y ayudaron muchísimo en el desarrollo de mis pasantías, de la tesis, dándome animo cada vez que algo no salía tan bien, con la parte experimental =) gracias!!!! En este mismo Lab tuve la oportunidad de trabajar con NOEMI y SAUL en todo momento conté con su apoyo, Dra le agradezco inmensamente todo lo que me ayudo y cuanta paciencia me tuvo =) sin lugar a duda este logro también se lo debo a usted y Saul como ya te lo he dicho eres como un papá, siempre pendiente de toooodo. Gracias....

Otras personitas que me apoyaron y siempre creyeron en mi, y que se merecen unas palabras en estos agradecimientos son: mis vecinas, JORLEY, JOANSY, JOANY Y MARBELY (las monitas jeje las quiero mucho, uds siempre se aguantaron mis lloraderas y me dieron muchísimo animo, gracias!!!! y ahora bueno a celebrar jajaja).

También quisiera agradecerle a algunos profesores del ICT que formaron en mi toda una GEOQUIMICA =) Carlitos B, Ruthman H, Marly M, Santiago M, Tapia J, Manuel M, Williams M (que aunque nunca me distes clases me ayudaste con el correcto desarrollo de mi trabajo especial de grado GRACIAS), Eduardo C, Ana G... =) los recordare bonito!!!!

Para mí es un orgullo compartir este logro con todos ustedes, siempre podrán contar con ésta loquita =) que los quiere muchiiiiiiiiiiiiiiiiisimo y saben que:

**Ya es LICENCIADA EN GEOQUÍMICA!!!!!!!  
UCV ya tienes una nueva hija GRACIASSSSS.**



## Resumen

Los HC y sus derivados son sustancias de alto peso molecular, mayormente insolubles en agua, que resultan muy tóxicas para los organismos vivos. La mayoría de los microorganismos del suelo no pueden crecer en presencia de hidrocarburos y mueren. Entre estos microorganismos afectados están varios de importancia ecológica, como las bacterias fijadoras de N (Achá y Fontúrbel, 2000). La magnitud de afectación por petróleo en la actividad biológica del suelo, va a depender de la concentración del contaminante y de las características físico-químicas del suelo, por tanto al estudiar el impacto de este contaminante en la actividad biológica del suelo, se debe evaluar la textura.

Dentro del marco del proyecto Orinoco-Magna Reserva, la industria petrolera tiene planificado realizar actividades de explotación al sur del estado Anzoátegui. En esa zona se encuentran ecosistemas de altísima fragilidad como morichales y bosques ribereños, los cuales se encuentran ocupando suelos de textura variada (Chacón *et al.*, 2007). Tomando en cuenta este aspecto el objetivo principal de este estudio fue evaluar los cambios en la mineralización de N cuando suelos de diferentes texturas están siendo impactados con concentraciones basales de crudo. La información aquí obtenida se espera que contribuya a diseñar estrategias de recuperación de áreas degradadas por actividades de la industria petrolera.

En este trabajo se determinó que independientemente del tipo de textura de suelo la adición de niveles basales de crudo condujo a un decrecimiento en la mineralización neta de N en el suelo, pero no en el  $N_o$ . En el suelo arcilloso la  $k$  también decreció a consecuencia de la adición de crudo. En la zona de estudio los morichales se encuentran sobre suelos de textura arcillosa, por lo que el ciclaje de N en el suelo en este tipo de ecosistema se vería altamente afectado ante una posible contingencia de un derrame de crudo; por otro lado se obtuvo que el  $N_m$  disminuyó al aumentar la proporción de crudo empleado, y se determinaron altas y positivas correlaciones en parámetros determinados como  $N_m$  y %CT.

Palabras clave: mineralización, nitrógeno, crudo, suelo, textura.



## Índice

<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
Introducción	10
Planteamiento del problema	12
Objetivos	13
Antecedentes de la investigación	14
Marco teórico	16
El ciclo del N en los ecosistemas terrestres	16
Factores que afectan el proceso de mineralización de la materia orgánica	20
Factores internos	21
Relación C/N	21
Contenido de lignina	22
Contenido de N	22
Factores externos	22
El pH del suelo	22
La humedad del suelo	23
Temperatura del suelo	24
Textura del suelo	25
Efecto del crudo en la actividad biológica e interacción de distintos contaminantes con el suelo	26
Materiales y métodos	29
Área de estudio	29
Toma de muestras	30
Tratamiento de las muestras	31
Experimento de mineralización de N	32
Determinación de Nitrógeno total (NT) y materia orgánica del suelo (MO)	33



---

---

Análisis estadístico	33
Resultados y discusiones	34
Propiedades físico-químicas de los suelos	34
Efecto de la textura y el grado de contaminación por crudo en el Nitrógeno acumulado (Nm), Nitrógeno potencialmente mineralizable (No), tasa de mineralización ( $k$ ), $1/k$	36
No como %NT del suelo de diferentes texturas a los distintos tratamientos	42
Correlación Nm-%CT	44
Conclusiones	46
Recomendaciones	48
Bibliografía	49
Apéndice	59



---

---

### Índice de tablas

<b>Tabla</b>	<b>Pág.</b>
1.- Propiedades físico-químicas de los suelos estudiados	34
2.- No, k, 1/k para los distintos tipos de textura de suelo y en los diferentes tratamientos con crudo	36
3.- Relación C/N para las diferentes texturas y tratamientos con Crudo	40
4.- No como %NT para diferentes texturas y bajo diferentes tratamientos con crudo	42
5.- Datos de las correlaciones Nm y el %CT	44

### Índice de figuras

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
1.- Ciclo del N <sub>2</sub>	17
2.- Localización del área de estudio	29
3.- Mineralización neta acumulada para suelos de diferentes texturas bajo distintos tratamientos	38



## Introducción

El suelo es una parte fundamental de los ecosistemas terrestres. Contiene agua y elementos nutritivos que los seres vivos utilizan. En él se apoyan y nutren las plantas en su crecimiento y condiciona, por tanto, todo el desarrollo del ecosistema.

En el suelo, existen dos clases importantes de compuestos de nitrógeno (N): nitrógeno orgánico, presente en las proteínas, aminoácidos, y urea, incluyendo al nitrógeno encontrado dentro de organismos vivos y de tejidos finos de la planta que decaen y animales; y el nitrógeno inorgánico, el cual incluye al amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), los nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Trautmann *et al.*, 1990).

El suelo normalmente muestra salidas y entradas constantes de nutrientes y elementos o complejos transformados de dichos nutrientes y elementos. En el caso del N durante el proceso de mineralización los microorganismos del suelo transforman los compuestos orgánicos de N, hidrolizándolos a formas inorgánicas simples como  $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{N-NH}_4^+$ , que son más fácilmente asimilables por las plantas y microorganismos. Estos utilizan estas formas de N en su crecimiento, principalmente en la síntesis de proteínas (Kelly y Stevenson, 1987). Madrid *et al.* (2001) señalan que en el caso de los microorganismos, este fenómeno es denominado inmovilización. Este dinámico sistema ha sido descrito como un equilibrio de mineralización-inmovilización (Jansson y Persson, 1982).

El proceso de mineralización de la materia orgánica está afectado por una serie de factores, los cuales Fassbender (1980) ha dividido en dos tipos: internos y externos. Los factores internos están relacionados con los restos animales y vegetales que son mineralizados y humificados; y los factores externos, con las características del medio en el cual ocurren dichos procesos.



Los hidrocarburos y sus derivados son sustancias de alto peso molecular, mayormente insolubles en agua, que resultan muy tóxicas para los organismos vivos. La mayoría de los microorganismos del suelo no pueden crecer en presencia de hidrocarburos por lo que tienden a desaparecer. Entre estos microorganismos están afectados varios de importancia ecológica, como las bacterias fijadoras de nitrógeno (Achá y Fontúrbel, 2000).

La magnitud de afectación que podría ocasionar la contaminación por petróleo en la actividad biológica del suelo, va a depender de la concentración del contaminante y de las características y propiedades del suelo (Labud *et al.*, 2007; Scherr *et al.*, 2007) por tanto, un parámetro importante a la hora de evaluar el grado de contaminación por crudo, es la textura del suelo.

En este sentido el estudio de los cambios producidos al adicionar crudo en el suelo, es un área de la investigación que no ha sido fuertemente explorada, particularmente el efecto de la mineralización en el suelo; es por ello, que a continuación es presentado una propuesta para evaluar el efecto del derrame de crudo en la mineralización potencial de N, sobre suelos de diferentes texturas, ubicados en el área comprendida entre los ríos Sariapo y Ature, al sur del estado Anzoátegui, sobre los cuales se desarrollan ecosistemas de altísima fragilidad ecológica como morichales, bosques ribereños y sabanas.



## Planteamiento del problema

Los ríos Ature y Sariapo son afluentes del río Orinoco, cuyas áreas de drenaje están ubicados al norte de la población de Mapire y al sur de San Diego de Cabrutica, en el sur del estado Anzoátegui. Esa región está dentro del denominado bloque Junín, del Proyecto Orinoco Magna Reserva el cual está contemplado dentro del Plan Siembra Petrolera 2005-2030, cuyo propósito es la cuantificación y certificación de las reservas de hidrocarburos existentes en la Faja Petrolífera del Orinoco, donde PDVSA está realizando exploraciones petroleras. El desarrollo tecnológico asociado a las actividades de exploración y producción de petróleo pesado y extra pesado en esa región, está acompañado de perturbaciones ambientales a ecosistemas de alta sensibilidad ecológica, esto amerita el temprano desarrollo de una línea base de investigación sobre el funcionamiento de esos ecosistemas (Chacón *et al.*, 2007).

El siguiente estudio, va a permitir el suministro de información para determinar el impacto potencial que podría ocasionar una contaminación por crudo en la mineralización de N en suelos de diferentes texturas, sobre los que se desarrollan diferentes tipos de vegetación. Los resultados en este estudio van a contribuir con el diseño de estrategias de recuperación de áreas degradadas por efecto de la actividad de la industria petrolera.



---

---

## Objetivos

### General

- Estudiar los efectos potenciales que produce diferentes grados de contaminación por crudo, en la mineralización de nitrógeno en suelos de diferentes texturas.

### Específicos

- Determinar los efectos de la adición de crudo en dos proporciones (3% y 6%) sobre la tasa de mineralización de nitrógeno ( $k$ ), el N acumulado ( $N_m$ ) y el potencialmente mineralizable ( $N_o$ ), en suelos con diferentes texturas.
- Establecer las relaciones existentes entre la materia orgánica del suelo y los valores de  $N_m$ , para los diferentes tratamientos.
- Determinar para los diferentes suelos y tratamientos, la proporción de  $N_o$  con respecto al nitrógeno total del suelo.



## Antecedentes de la investigación

La mineralización potencial de nitrógeno (N), es un proceso que ha sido estudiado con distintos propósitos. Un ejemplo de ello, lo constituye el trabajo de Barrios y Herrera (1994) quienes determinaron la mineralización de N “*in situ*” a lo largo de un gradiente de bosque inundable al sur del estado Anzoátegui. Los autores reportaron que la mayor mineralización de N tenía lugar en la zona que permanece mayor tiempo inundada, lo cual fue asociado con el mayor contenido de materia orgánica de ese sitio.

Por otro lado, Mogollón (1995) realizó un estudio sobre la mineralización potencial del nitrógeno en suelos de cafetales bajo diferentes árboles de sombra (cítricos y leguminosas), ubicados en el sector San Diego, estado Falcón. Este autor evaluó las relaciones entre el N potencialmente mineralizable y el N total, el N potencialmente mineralizable y la relación C/N, el N potencialmente mineralizable y el N inorgánico inicial. Mogollón (1995) concluyó que los mayores niveles de nitrógeno potencialmente mineralizable, estuvieron relacionados con el mayor contenido de nitrógeno total y con la relación C/N.

Rangel *et al*, (2007) evaluaron la mineralización de N en el suelo de dos bosques de contrastante intensidad de inundación; así como el estudio del efecto de la condición redox y la época de muestreo (período seco y lluvioso), determinando altas y positivas correlaciones entre el Nm y el carbono orgánico del Suelo (COS) en los dos tratamientos de incubación y para las dos fechas de muestreo. Sugiriendo que para ambas zonas la mineralización del N está en su mayor parte explicada por el contenido de COS.

Dentro de los parámetros a considerar durante la evolución del proceso de mineralización de N son las propiedades físico-químicas del suelo. En este



sentido, es importante destacar el estudio realizado por Wang *et al.*, (2001) que estudiaron la relación entre los parámetros físico-químicos con una referencia o control, definiendo que dichas propiedades si influyen el proceso de mineralización de N.

Por otro lado, se tienen investigaciones donde se estudia la influencia de las propiedades físico-químicas del suelo y su influencia al agregar crudo como es el caso de Labud *et al.*, (2007), Scherr *et al.*, (2007) donde indican que la magnitud de la afectación va a depender de la concentración del contaminante y de las características físico-químicas del suelo. Los resultados de estos estudios mostraron que suelos de textura arcillosa y con altos contenidos de materia orgánica protegen a los micro-organismos del efecto dañino de los hidrocarburos, conduciendo a una baja inhibición del tamaño de la población microbiana. El mecanismo sugerido por estos autores para la inmovilización de contaminantes en suelos arcillosos con elevados contenidos de materia orgánica, ha sido el de adsorción físico-química lo cual conduce al decrecimiento en la concentración del contaminante.

Por su parte Labud *et al.*, (2007) indica que en suelos arenosos con poca o ninguna superficie orgánica e inorgánica de retención, este mecanismo no es posible, por lo que un contaminante ejercería un efecto más tóxico sobre los micro-organismos del suelo. En este estudio fue también determinado un mayor efecto inhibitorio en las enzimas asociadas a los ciclos del C, N y P en suelos arenosos que en suelos arcillosos.

Los estudios anteriores muestran información relevante en cuanto a los estudios de mineralización de N con distinto propósito, así mismo se destaca las implicaciones del impacto de los contaminantes orgánicos entre ellos los hidrocarburos en la actividad biológica del suelo. Sin embargo no se conocen estudios que muestren el efecto del ingreso de crudo al suelo sobre la



mineralización potencial de N y sus variaciones de acuerdo a la clase textural del suelo.

## **Marco teórico**

### **El ciclo del nitrógeno en los ecosistemas terrestres**

El ciclo del nitrógeno (N) en el suelo, forma parte del ciclo global del N en la naturaleza. La principal fuente del N en el suelo es el atmosférico, donde la molécula gaseosa fuertemente unida  $N_2$  es el gas predominante (79,08% por volumen de los gases). Sólo un número muy limitado de microorganismos tiene la habilidad de utilizar el N elemental, todos los demás organismos que viven en la tierra requieren del N combinado para llevar a cabo sus actividades de vida. (Stevenson, 1986).

Las ganancias del N ocurren a través de la fijación de N elemental por los microorganismos e ingreso de amonio y nitrato en el agua de lluvia; mientras que, las pérdidas de N ocurren a través de las cosechas de cultivos, lixiviación en el suelo y volatilización (Figura 1). La formación de complejos minerales protege los constituyentes nitrogenados contra el ataque de los microorganismos. El ión amonio ( $NH_4^+$ ) experimenta reacciones de sustitución con los cationes metálicos en el complejo de intercambio del suelo pasando a ser fijado o adsorbido por los minerales de arcilla (Stevenson, 1986).

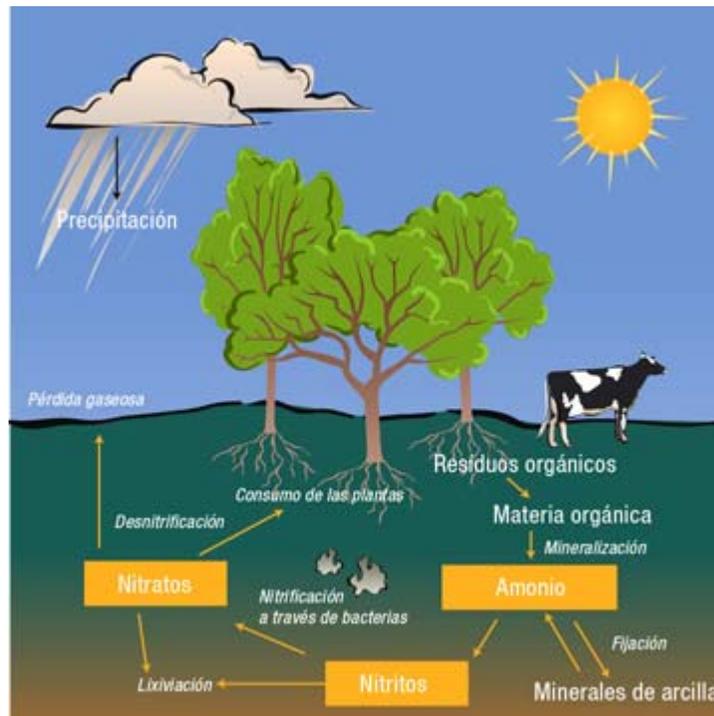


Fig. 1. Ciclo del N<sub>2</sub> (Gardiner, 2005)

Durante el ciclo del N ocurren una serie de procesos los cuales son gobernados por factores tanto bióticos como abióticos. Desde un punto de vista cualitativo, el más importante de los factores abióticos es el potencial redox, dado que solo ciertos procesos ocurren en aerobiosis y otros en anaerobiosis. Dentro de los factores bióticos, los microorganismos desempeñan un papel importante ya que son los responsables de procesos tales como: fijación, nitrificación, desnitrificación y amonificación (Rosswal, 1982).

En este ciclo es observado que el N se incorpora al suelo a través de materiales como restos de cultivos, abonos verdes, estiércol, fertilizantes



comerciales y sales amónicas y nitratos producidos por precipitación. Mientras que la salida se debe a la remoción del cultivo, al drenaje, a la erosión y pérdida en condición gaseosa, tanto en forma elemental como en compuestos amónicos.

La mayor parte del N en el suelo está presente en formas orgánicas tales como: aminoácidos, aminoazúcares, proteínas y ácidos nucleicos, entre otras; en porcentajes que pueden ir desde un 85% a un 95% (Fassbender, 1980). Bajo esta forma el N no es asimilable por las plantas.

El N biodisponible está fundamentalmente bajo las formas inorgánicas de amonio ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ). El nitrito ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ) en el suelo puede ser detectable, pero en cantidades relativamente pequeñas al compararla con las cantidades de amonio y nitrato, por lo cual muchas veces resulta de poca importancia su determinación en el laboratorio. Sin embargo, Bremner (1965) ha indicado que este puede acumularse en grandes cantidades, en suelos alcalinos que reciben altas cantidades de fertilizantes amoniacales.

El N orgánico es altamente susceptible a las transformaciones microbiales. Durante la mineralización de la materia orgánica, el N en el suelo experimenta una serie de transformaciones, las cuales involucran compuestos orgánicos, inorgánicos y volátiles. Estas transformaciones ocurren simultáneamente, pero en etapas individuales, y son llevadas a cabo por microorganismos diferentes. Las reacciones pueden ser vistas en términos de un ciclo, en el cual el elemento pasa de una etapa a otra según la dirección que le confiera la microflora del suelo, (Franco y Munns, 1982).

Los restos vegetales y animales que son polímeros de compuestos orgánicos, son inicialmente degradados y depolimerizados hasta sus constituyentes básicos, siendo el amonio uno de estos, debido a que se producen



o forman compuestos inorgánicos; a este proceso se le denomina mineralización (Fassbender, 1980).

La mineralización del N en forma de amonio ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), ocurre a partir de la amonificación de sustancias orgánicas tales como aminoácidos, aminoazúcares, proteínas y ácidos nucleicos, entre otros; este proceso es llevado a cabo por algunos microorganismos proteolíticos, como *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Serratia sp.* (Bacterias) y *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium sp.* (Hongos) (Alexander, 1977).

Los iones amonio ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), liberados a partir de la materia orgánica, pueden tener un corto periodo de disponibilidad en el suelo, ya que algunos pueden ser temporalmente adsorbidos a la superficie de las arcillas cargadas negativamente o en las partículas coloidales orgánicas. (Ayans, 1975)

La inmovilización biológica es otro factor importante dentro del ciclo del N en los ecosistemas terrestres. La misma consiste en la incorporación de  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  y  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  dentro de las proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos orgánicos contenidos dentro de las células microbiales. En este caso, la inmovilización resulta en un proceso inverso a la mineralización del N orgánico, (Alexander, 1977).

Durante la descomposición y mineralización de la materia orgánica del suelo, el  $\text{NH}_4^+$  producido en exceso, que no es utilizado por los microorganismos o por las plantas, es liberado lo que puede dar lugar al proceso de nitrificación, llevada a cabo principalmente por bacterias autotróficas. Las bacterias nitrificadoras más conocidas son del género *Nitrosomonas*, las cuales oxidan el amonio a nitrito; y las del género *Nitrobacter*, que oxidan el nitrito a nitrato, (Tamm, 1991).



Donahue *et al.*, (1981) indican que la oxidación de iones de amonio a iones de nitrato por las bacterias anteriormente mencionadas, es un proceso que puede resultar sumamente rápido. Los iones  $\text{NH}_4^+$  mineralizados pueden ser nitrificados en 1 ó 2 días, a menos que el suelo sea fuertemente ácido (valores de pH menores de 4,5), frío o húmedo, lo cual reduce la tasa de nitrificación de una manera drástica.

Es muy común que la concentración de iones amonio en suelos con una densa cobertura vegetal, sea bastante baja (menos de  $5 \text{ mg NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$  de suelo). Sin embargo, como señala Roswall (1982) esto no implica realmente que exista una baja tasa de mineralización, ya que pudiera estar ocurriendo una rápida nitrificación o una alta demanda por las plantas.

La nitrificación conlleva a un incremento en la disponibilidad del N, ya que formas poco móviles de N ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), son transformadas a formas más móviles ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) y disponibles a las raíces de las plantas, así como también a pérdidas eventuales en los ecosistemas. (Barrios y Herrera, 1994)

La desnitrificación es un mecanismo a través del cual ciertas bacterias utilizan de alguna manera el oxígeno presente en las formas nitrogenadas de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  como fuente de energía, lo cual ocurre en condiciones ambientales donde el oxígeno es escaso, (Alexander, 1977).

### **Factores que afectan el proceso de mineralización de la materia orgánica**

El proceso de mineralización de la materia orgánica está afectado por factores internos y externos. Dentro de los factores internos se encuentran los relacionados con los restos animales y vegetales que se mineralizan y humifican;



mientras que los externos, con las características del medio físico en el cual ocurren los procesos.

Dentro de los factores internos que afectan la mineralización de la materia orgánica, destacan los siguientes: relación C/N, contenido de lignina y contenido de nitrógeno.

### Relación C/N

La relación C/N de la materia orgánica juega un papel regulador en la mineralización del N orgánico (Mulongoy y Gasser, 1993). Vitousek (1982) señala que cuando la relación C/N es alta (>30:1), la acción de los microorganismos descomponedores puede ser limitada, permitiendo la inmovilización del N en su biomasa. Por el contrario, si la relación C/N es baja (12-20:1), el N no es limitante para la acción de estos microorganismos, produciendo la mineralización del N inorgánico ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$  y  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ), el cual es liberado a la solución del suelo.

La relación C/N de la materia orgánica, está relacionada a los patrones de inmovilización y mineralización de N durante la descomposición de la materia orgánica por los microorganismos del suelo. Cuando la relación C/N presenta valores bajos, la descomposición y mineralización del N proceden de una manera más rápida (Swift *et al.*, 1979).

Robertson (1984) indicó que la relación C/N usada como índice de la calidad del sustrato, juega un papel importante en los patrones de la mineralización observada. Si la hojarasca caída presenta una baja calidad (una alta relación C/N o un alto contenido de lignina), es muy poco el N en la biomasa que va a ser incorporado al suelo para el proceso de mineralización.



---

---

### Contenido de lignina

La concentración de lignina en el material vegetal en proceso de descomposición es otro factor que puede afectar la mineralización del N orgánico.

Estudios realizados por Melillo *et al.*, (1982) sugieren que mientras mayor es el valor de concentración de lignina en el residuo, mayor será la cantidad de N inmovilizado, por unidad de carbono respirado. Este fenómeno puede ser el resultado de la formación de un complejo metaestable de N (e.g., humus), durante el proceso de descomposición.

### El contenido de nitrógeno

La concentración de N en el material vegetal actúa como un parámetro indicador de la facilidad de mineralización del N. En residuos de plantas leguminosas con altos valores de N, es común observar una rápida tasa de liberación del N (Ladd *et al.*, 1981; Palm y Sánchez, 1991). Es así como la utilización de residuos de plantas leguminosas como abonos verdes, “mulches”, cultivos de cobertura (Wade y Sánchez, 1983), o como plantas utilizadas en sistemas agroforestales (Babbar y Zak, 1994), pueden aumentar la disponibilidad y capacidad de mineralización del N en el suelo.

### Factores externos que afectan la mineralización de la materia orgánica

#### El pH del suelo

El pH del suelo puede influir sobre el proceso de mineralización. Cuando los otros factores que controlan la mineralización permanecen constantes, la producción de N inorgánico ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) es mayor en suelos con pH neutros o ligeramente alcalinos, que en suelos ácidos (Alexander, 1977). La nitrificación



puede ser realizada por microorganismos ácido-tolerantes y ácido-sensitivos, pudiendo existir una restricción del proceso por bajos valores de pH. En suelos superficiales donde no existen los nitrificadores ácido-tolerantes, la formación de nitrato puede quedar restringida a estratos más profundos, donde el pH es más favorable a los nitrificadores ácido-sensitivos. Sin embargo, algunos suelos pueden presentar poca influencia del pH sobre las transformaciones del N. El N orgánico tiende a acumularse en suelos altamente ácidos, esto se debe a la lenta tasa de mineralización en estos sitios (Persson y Wirén, 1995).

### La humedad del suelo

El secado y humedecimiento estacional de los suelos, es un proceso muy común en regiones tropicales, debido a la estacionalidad bien marcada de las precipitaciones a través del año. Algunos estudios como los de Birch (1960) y Van Gestel *et al.*, (1991) han indicado que este proceso influye de una manera directa en la mineralización del C y el N, especialmente en la nitrificación. De acuerdo a los mencionados autores, este efecto puede ser atribuido a los cambios producidos en la composición y actividad de los microorganismos del suelo.

El secado del suelo puede eliminar algunos microorganismos, suministrando una fuente de C fácilmente mineralizable cuando el suelo es rehumedecido. Sin embargo, Bramley y White (1990), en un trabajo realizado, encontraron que el “stress” hídrico no fue un factor regulador en la actividad de los nitrificadores, concluyendo que estos son tolerantes a los cambios estacionales en los niveles de humedad del suelo.

Por otro lado, Chen y Alexander (1973) indican que la mineralización puede tener lugar a tensiones de humedad mayores de 15 bares. La posible explicación de este fenómeno es la cantidad sustancial de agua presente a altas tensiones en



los microporos del suelo. Aunque esta agua no es utilizada para las plantas, puede ser disponible para los microorganismos mineralizantes.

Por su parte Sánchez (1976) señala que en la mayoría de las áreas tropicales, el N inorgánico muestra una fluctuación estacional, descrita de la siguiente manera:

- 1) Ligera acumulación de  $\text{NO}_3^-$ -N en el horizonte superficial del suelo, durante la época seca.
- 2) Gran incremento, pero corto con respecto al tiempo, al comienzo de la época lluviosa.
- 3) Rápida disminución durante el resto de la temporada lluviosa.

Cuando periodos cortos de sequía ocurren durante la época lluviosa, estos son seguidos por un agudo pero pequeño incremento en el N inorgánico, luego por una disminución gradual. Estos cortos intervalos, también llamados picos, han sido reportados por Birch (1964), señalando su existencia en un amplio ámbito de condiciones de suelo. Estos picos son denominados algunas veces como el “efecto Birch”.

### Temperatura del suelo

La mineralización del N por microorganismos del suelo, está afectada por la temperatura. A temperaturas de  $2^\circ\text{C}$ , los microorganismos mineralizan muy lentamente los compuestos orgánicos. Cuando los suelos se congelan, se detiene el proceso de mineralización (Alexander, 1977). La actividad máxima de los microorganismos nitrificadores parece tener un óptimo entre los  $15^\circ\text{C}$  y  $35^\circ\text{C}$ , mientras que los microorganismos amonificadores aumentan su actividad a temperaturas superiores a los  $35^\circ\text{C}$ , estando su temperatura óptima entre  $20$  y  $45^\circ\text{C}$  (Kowalenko *et al.*, 1978).



Ross (1991) indicó que en muestras congeladas almacenadas para 3 meses o más, las tasas de mineralización de N fueron mayores sobre los valores obtenidos de muestras frescas. Al observar las tasas crecientes de la mineralización de N que se mantienen constantes, con observaciones de otros investigadores y con los estudios en el campo que demuestran las altas tasas de la mineralización y de la nitrificación que siguen el suelo que se descongela (Edwards y Cresser, 1992). Por esta razón, la conservación en cámara frigorífica se recomienda para los suelos antes de que las medidas del laboratorio de la mineralización o de la nitrificación de N se tomen.

### La textura del suelo

Dentro de la textura del suelo, el contenido y tipo de las arcillas presentes es un factor que influye en el proceso de mineralización del N. El  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  producido puede ser inmovilizado por las arcillas, tanto en forma intercambiable como no intercambiable. El  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  intercambiable se encuentra en equilibrio dinámico con otros cationes de la solución del suelo, por lo que está disponible para la absorción por las plantas o para la inmovilización microbiana.

Martín *et al.*, (2006) confirmó la importancia de la textura y tipo de suelo en el proceso de la mineralización, esto concuerda con autores como Seneviratne *et al.*, (1999) quienes indicaron que los parámetros que determinan la liberación de nitrógeno son muy dependientes del tipo de suelo y de la composición de su materia orgánica.

Mamo *et al.*, (1993) indican que el amonio no intercambiable que está fijado en la estructura de ciertas arcillas, tiene poca o ninguna disponibilidad biológica.



---

---

### **Efecto del crudo en la actividad biológica e interacción de distintos contaminantes con el suelo.**

Los hidrocarburos y sus derivados son sustancias de alto peso molecular, mayormente insolubles en agua, que resultan muy tóxicas para los organismos vivos. La mayoría de los microorganismos del suelo no pueden crecer en presencia de hidrocarburos y mueren. Entre estos microorganismos afectados están varios de importancia ecológica, como las bacterias fijadoras de nitrógeno (Achá y Fontúrbel, 2000)

Estudios relacionados con el daño que podría ocasionar la contaminación por petróleo en la actividad biológica del suelo (parámetro esencial en el ciclaje de nutrientes), indican que la magnitud de la afectación va a depender de la concentración del contaminante y de las características físico-químicas del suelo (Labud *et al.*, 2007; Scherr *et al.*, 2007).

El comportamiento de los contaminantes orgánicos está en función de sus características físicas y químicas (densidad, solubilidad, polaridad, entre otras); además de las características del medio tales como la unidad de suelo, permeabilidad, estructura, tamaño de las partículas, contenido de humedad y de materia orgánica; así como la profundidad del manto freático. Factores climatológicos como la temperatura y la precipitación, también tienen una gran influencia. Todas las variables en su conjunto definen el tamaño y la distribución tridimensional del frente de contaminación en una zona específica (Jury, 1989).

Compuestos orgánicos ligeros como gasolina, aceite y petróleo tienden a formar una capa en forma de nata en el nivel freático, con un movimiento horizontal en dirección al flujo del agua subterránea. Los compuestos orgánicos densos, migran hacia la base del acuífero creando una columna a partir de la cual pueden moverse en dirección al flujo de agua subterránea, conllevando a su



contaminación en toda su profundidad (Barcelona *et al.*, 1990).

Para la zona superficial se han conceptualizado algunas relaciones con respecto al suelo y a la presencia de contaminantes, a través de observaciones indirectas de acumulación de los contaminantes orgánicos en asociación con adsorbentes naturales (Luthy *et al.*, 1997) estableciéndose los siguientes procesos:

- 1) Adsorción a la materia orgánica amorfa o natural o en Líquidos de la Fase No Acuosa (LFNA) como es el caso del petróleo.
- 2) Adsorción a "la materia orgánica condensada o en polímeros o residuos de combustión.
- 3) Adsorción a superficies orgánicas húmedas (hollín).
- 4) Adsorción en superficies minerales (cuarzo).
- 5) Adsorción dentro de los microporos o en minerales microporosos (zeolitis) con superficies porosas a saturación de agua < 100 por ciento.

Luthy *et al.*, (1997) indican que las interacciones del geoadsorbente con los contaminantes orgánicos hidrofóbicos son de tres tipos a saber:

a) El mineral con su superficie reactiva atribuible a:

- Superficies minerales externas expuestas a la escala de la partícula y superficies dentro de los macroporos;
- Superficies interlaminares de arcillas expandibles a una escala de nanómetros;
- Superficies dentro de los mesoporos y microporos.

b) La materia orgánica del suelo a una escala de nanómetros.

c) Los LFNA adheridos o atrapados que pueden funcionar como materia



orgánica, excepto para material altamente intemperizado o películas interfaciales.

Las propiedades físicas del suelo más afectadas por derrames de hidrocarburos son:

- La estructura del suelo debido a la ruptura de los agregados.
- Aumento de la retención del agua en la capa superficial.
- El potencial hídrico (Luthy *et al.*, 1997).

Es importante destacar, que estas propiedades del suelo son influyentes en el proceso de mineralización.

Probablemente el componente más importante del suelo, en relación con la persistencia de sustancias tóxicas es la arcilla. La persistencia aumenta cuantas más pequeñas son las partículas, debido a que aportan una gran área superficial para la adsorción de los productos químicos.

Las propiedades químicas del suelo más afectadas por un derrame de hidrocarburos son:

- Aumento del carbono orgánico, ya que el 75 % del carbono del petróleo crudo es oxidable.
- Disminución del pH, debido a la acumulación del carbono orgánico y generación de ácidos orgánicos.
- Aumento del manganeso e hierro intercambiable.
- Aumento del fósforo disponible (Luthy *et al.*, 1997).



## Materiales y métodos

### Área de estudio

Geográficamente, el área de estudio está situada entre las coordenadas UTM N 275000 E915000 y N 335000 E 875000 (figura 2). Geológicamente la región está ubicada dentro de la denominada Formación Mesa (Carbón y Schubert, 1994). Esa región presenta un bioclima seco tropical según la clasificación de Holdridge (1947), con un promedio anual de temperatura de 27,4 °C (Vegas-Vilarrúbia y Herrera, 1993). De acuerdo a los registros de la estación de San Diego de Cabrutica, el promedio de precipitación anual es de 920,8 mm (período 1970-1995), concentrada entre los meses de mayo a octubre.

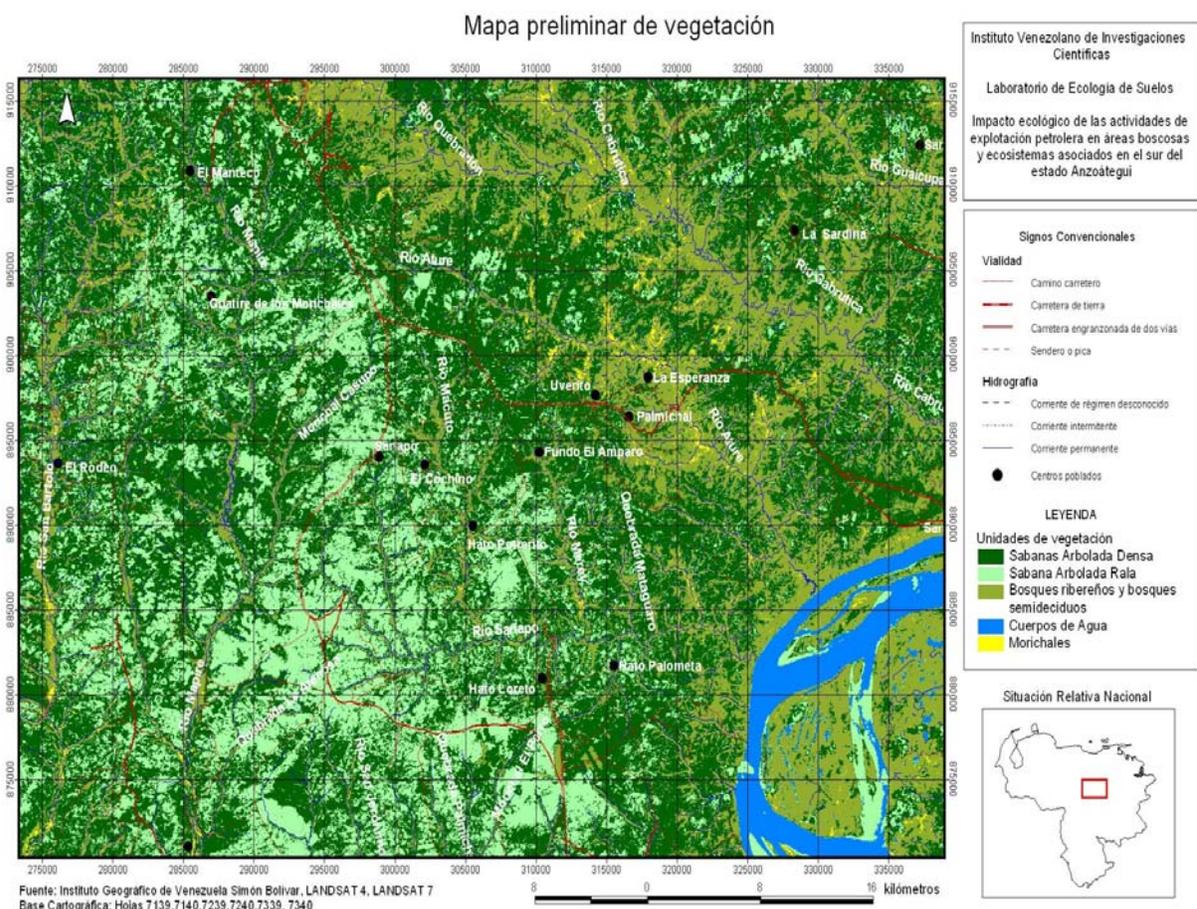


Figura 2. Localización del área de estudio (Chacón *et al.*, 2007)



---

---

### Toma de muestras

El muestreo de suelo fue realizado por el grupo del Laboratorio de Ecología de Suelos del IVIC, como parte de un macroproyecto relacionado con el estudio de las perturbaciones ecológicas generadas por las actividades de la industria petrolera al sur del estado Anzoátegui. Durante el trabajo de campo, fueron colectadas muestras de suelos bajo los diferentes tipos de vegetación existentes en la zona. En cada tipo de vegetación reconocida por este grupo (sabanas arboladas densas y ralas, bosques ribereños, bosques semi-decuidos y morichales) se delimitó una parcela de 50 x 20 m (0,1 h) 4 en total, de donde fueron extraídos con un barreno los suelos a través de un diseño completamente aleatorio (profundidad = 10 cm). Para este estudio en cada parcela se tomaron 8 muestras de suelo del horizonte superficial ( $n= 8/\text{parcela}$  N total=32). De acuerdo al estudio realizado por Chacón et al., (2007) los suelos bajo los diferentes tipos de vegetación, muestran diferentes texturas, a saber: bosque ribereño siempre verde y sabana arbustiva rala (areno francoso), bosque semi-decuido (franco arenoso), sabana arbustiva densa (arenoso), morichal (arcilloso). Una vez extraído el suelo, éste fue guardado en bolsas plásticas previamente identificadas para su análisis en el laboratorio (Chacón *et al.*, 2007).



---

---

### **Tratamiento de las muestras**

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron secadas al aire y posteriormente tamizadas a través de una malla 2mm. Las raíces visibles fueron manualmente extraídas. Para el estudio de mineralización las muestras tamizadas fueron sujetas a los siguientes tratamientos: suelo control sin crudo (SC), mezcla suelo 97%: crudo 3% (MSC3%) y mezcla suelo 94%: crudo 6% (MSC6%). Para cada tratamiento se emplearon un total de 32 muestras. El crudo empleado en el ensayo es el denominado Merey, suministrado por el INTEVEP. La caracterización del crudo indica que el mismo presenta 16° API, una proporción de asfaltenos de aproximadamente 17%, una alta viscosidad y un punto de inflamación de 32°C.



## Experimento de mineralización de N

La mineralización de N en cada tratamiento, fue evaluada durante 12 semanas continuas siguiendo el procedimiento descrito por Standford y Smith (1972). Para ello, las muestras de suelo fueron inicialmente lixiviadas con una solución 0,01 M de  $\text{CaCl}_2$ , con el propósito de remover todo el N inicialmente presente; seguidamente, las muestras fueron incubadas a condición de campo (se mantuvo constante la presión, humedad, temperatura) y provistas de una solución nutritiva con la siguiente composición:  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,002M;  $\text{MgSO}_4$  0,002M;  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,005M y  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,0025M.

El N mineralizado fue luego extraído en cada período de incubación con una solución 0,01 M de  $\text{CaCl}_2$ . Una vez extraído el N presente en los distintos períodos de incubación, la solución nutritiva fue re-establecida. En los extractos de  $\text{CaCl}_2$  obtenidos durante los diferentes períodos de incubación (semanalmente), el  $\text{NH}_4^+$  fue determinado a partir de la reacción conocida con el nombre de Berthelot (reportada por primera vez en 1859) y modificada por Paolini (2000). Esta consiste en la reacción del ión amonio con el hipoclorito de sodio en presencia de un fenol, específicamente el salicilato. Dicha reacción forma primero una monocloramina y después un compuesto de inofenol a pH básico (color verde esmeralda). El producto de la reacción fue determinado por colorimetría ( $\lambda = 690 \text{ nm}$ ).

El Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) se determinó a través del método descrito por Keeney y Nelson (1982) que consiste en la toma de una alícuota de 0,5 mL de las muestras (extracto de  $\text{CaCl}_2$ ) donde fue adicionado 1 mL de una solución de ácido salicílico y luego de 30 min se le agregaron 10 mL de  $\text{NaOH}$  4 M. Dicha reacción forma una solución de color amarillo. Finalmente, se midió la absorbancia por colorimetría ( $\lambda = 410 \text{ nm}$ ).



La mineralización neta de nitrógeno ( $N_m$ ), el nitrógeno potencialmente mineralizable ( $N_o$ ) y la tasa de mineralización ( $k$ ) fueron calculadas siguiendo el modelo de Standford y Smith (1972).

### **Determinación del nitrógeno total y la materia orgánica del suelo**

Antes de iniciar la incubación de las muestras para el estudio de mineralización, el suelo bajo los diferentes tratamientos, fue tamizado a través de una malla  $<0,1$  mm. De esa fracción se tomaron alícuotas de 0,25 g, posteriormente digeridas por 10 h con una mezcla de  $H_2SO_4-H_2O_2$  para la determinación de N total en forma de amonio, esta determinación fue realizada por la técnica de colorimetría  $\lambda = 690$  nm (reacción de Berthelot). En otra alícuota de esa fracción de suelo ( $\approx 0,5$  g) fue determinada la materia orgánica del suelo (MOS) por el método de Walkley y Black (Jackson, 1958). Este método consiste en la oxidación de la muestra en presencia de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) y posterior titulación con sulfato ferroso amoniacal  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ .

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico fue realizado usando el programa STATISTICA para Windows 6.0 (Statistica, 2001). Las comparaciones de los resultados fueron llevadas a cabo a través del análisis de varianza de una vía (ANOVA  $P < 0,05$ ) y una prueba de Tukey fue usada para separar las medias. Cuando los datos no cumplieron los supuestos para el ANOVA, un ensayo no paramétrico (Mann Whitney) fue usada para determinar las diferencias estadísticas. Correlaciones lineales simples fueron usadas para evaluar las relaciones entre  $N_m$ -%C y  $N_o$ -%C ( $P < 0,05$ ).



## Resultados y discusión

A continuación se presentan los resultados y discusiones obtenidos durante el desarrollo experimental.

### Propiedades físico-química de los suelos

Las características físico-químicas de los suelos para diferentes tipos de texturas son mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de lo suelos estudiados

	Franco-arenoso/ Bosque semiducido	Areno-francoso/ Sabana rala	Arcilloso/ Morichal	Arenoso/ Sabana densa
pH H <sub>2</sub> O	4,97±0,22 <sup>a</sup>	5,24±0,23 <sup>a</sup>	4,56±0,29 <sup>b</sup>	5,31±0,24 <sup>a</sup>
%COS	0,83±0,19 <sup>b</sup>	1,00±0,21 <sup>b</sup>	2,69±0,86 <sup>a</sup>	0,70±0,20 <sup>b</sup>
%N	0,045±0,02 <sup>b</sup>	0,042±0,01 <sup>b</sup>	0,152±0,02 <sup>a</sup>	0,015±0,01 <sup>c</sup>
P (mg/Kg)	1,916±1,90 <sup>b</sup>	2,756±2,32 <sup>ab</sup>	Dld	0,733±0,26 <sup>b</sup>
CICE (cmol/Kg)	7,782±2,05 <sup>a</sup>	2,332±0,53 <sup>c</sup>	4,199±0,68 <sup>b</sup>	2,055±0,87 <sup>c</sup>
%SB	71,074±18,76 <sup>a</sup>	7,187±1,92 <sup>d</sup>	35,602±13,74 <sup>b</sup>	25,595±22,02 <sup>bc</sup>
% arcilla	15,14±3,84 <sup>b</sup>	10,26±5,77 <sup>bc</sup>	42,98±6,00 <sup>a</sup>	3,75±1,34 <sup>c</sup>
% limo	22,36±10,75 <sup>a</sup>	3,91±1,19 <sup>b</sup>	21,18±2,46 <sup>a</sup>	6,25±1,34 <sup>b</sup>
% arena	62,50±13,86 <sup>b</sup>	85,83±6,45 <sup>a</sup>	35,83±5,85 <sup>c</sup>	90,00±1,34 <sup>a</sup>

Valores representan la media ± DS. Diferentes letras en una misma fila denota diferencias significativas entre zonas. (ANOVA,  $P < 0,05$ ). COS: carbono orgánico del suelo; N: nitrógeno total; P: fósforo disponible; CICE: capacidad de intercambio catiónico efectiva; SB: saturación con bases; dld: valores por debajo del límite de detección del método. Tomado de Chacón et al. (2007)

El análisis físico-químico, empleado para la obtención de los datos expresados en la Tabla 1 fue el que sigue:

El suelo de la fracción < 2mm fue empleado para las siguientes determinaciones: (i) pH en agua y KCl 1 M en una relación 1:5, (ii) cationes intercambiables (Na, K, Mg y Ca) extraídos con una solución de CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 1N (Thomas 1982) y determinados por espectroscopia de absorción atómica a la



llama, (iii) acidez intercambiable (Al + H) extraída con una solución de KCl 1M y determinada por titulación con NaOH (McLean 1965) y (iv) análisis de partículas por el método del hidrómetro (Day 1965). Con los datos de acidez y cationes intercambiables fue calculada la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE), siguiendo a Coleman *et al.*, (1959).

El P disponible fue extraído de la fracción de suelo < 0,5 mm de acuerdo a Tiessen y Moir (1993) y determinado a través de un método colorimétrico (Murphy and Riley 1962), después de ajustar la solución a pH 4 usando *p*-nitrofenol. Una alícuota (0,25 g) de la fracción de suelo < 0,1 mm fue digerida por 10 h con una mezcla de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para la determinación de N total por auto-analizador. En esta fracción fue determinado también el carbono orgánico del suelo (CO) por el método de Walkley and Black (Jackson 1958).

Los resultados revelan que los suelos en general son ácidos, de poca fertilidad expresada mediante muy bajas concentraciones de Carbono Orgánico del suelo (COS), N, P y capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) (tabla 1). Por otro lado el %N es significativamente más alto en los suelos arcillosos.



### Efecto de la textura y el grado de contaminación por crudo en el Nm, No, *k* y 1/*k*

Parámetros como Nm, No *k* y 1/*k* fueron determinados con el fin de evaluar los efectos potenciales sobre el suelo que producen diferentes grados de contaminación por crudo, en el proceso de mineralización de N, variando las diferentes texturas de suelo.

Tabla 2. Nitrógeno potencialmente mineralizable (No), tasa de mineralización (*k*) y 1/*k* para los distintos tipos de textura de suelo y en los diferentes tratamientos con crudo

Suelo	Tratamiento	No (mg/Kg)	<i>K</i> sem <sup>-1</sup>	1/ <i>k</i> sem
Franco	Control	536+/-1131 <sup>a1</sup>	0,076+/-0,051 <sup>a1</sup>	14,41+/-6,77 <sup>A1</sup>
arenoso	3%	124+/-60 <sup>a1</sup>	0,101+/-0,104 <sup>a1</sup>	19,09+/-14,38 <sup>A1</sup>
BSd	6%	130+/-92 <sup>a1</sup>	0,070+/-0,045 <sup>a1</sup>	25,34+/-24,76 <sup>B1</sup>
Areno	Control	113+/-31 <sup>a1</sup>	0,082+/-0,046 <sup>a1</sup>	15,31+/-7,73 <sup>A1</sup>
francoso	3%	106+/-64 <sup>a1</sup>	0,101+/-0,071 <sup>a1</sup>	15,59+/-10,49 <sup>A1</sup>
SR	6%	265+/-435 <sup>a1</sup>	0,068+/-0,048 <sup>a1</sup>	16,26+/-8,12 <sup>A1</sup>
Arcilloso	Control	326+/-76 <sup>a2</sup>	0,103+/-0,013 <sup>a1</sup>	9,80+/-1,23 <sup>A1</sup>
Mo	3%	556+/-505 <sup>a1</sup>	0,059+/-0,023 <sup>b1</sup>	15,87+/-4,17 <sup>A1</sup>
	6%	649+/-338 <sup>a2</sup>	0,044+/-0,025 <sup>b1</sup>	30,93+/-19,38 <sup>B2</sup>
Arenoso	Control	150+/-32 <sup>a1</sup>	0,065+/-0,024 <sup>a1</sup>	17,26+/-6,26 <sup>A2</sup>
SD	3%	355+/-537 <sup>a1</sup>	0,062+/-0,038 <sup>a1</sup>	19,69+/-14,30 <sup>A2</sup>
	6%	104+/-20 <sup>a1</sup>	0,099+/-0,034 <sup>a1</sup>	11,38+/-4,62 <sup>B2</sup>

Valores representan la media ± DS. Dentro de una misma columna diferentes letras minúsculas, números y letras mayúsculas, denota diferencia significativa en No, *k* y 1/*k* en los suelos a los diferentes tratamientos. (ANOVA P<0,05).BSd=bosque semidecuido, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD= sabana densa

Los resultados del N potencialmente mineralizable (No) y la constante de mineralización (*k*) para los diferentes tratamientos y en los distintos grupos de texturas de los suelos, son mostrados en la Tabla 2. Es importante destacar que estos parámetros son determinados a partir de un análisis matemático (apéndice A). Este análisis es ajustado a la técnica de regresión lineal, permitiendo determinar parámetros como No y *k*.



Para las diferentes texturas de suelo el No (Tabla 2) no parece estar significativamente afectado por los tratamientos con crudo, mientras que la constante de mineralización  $k$  disminuyó con la adición de crudo en el suelo arcilloso-morichal, pero no para el resto de los suelos. Estos resultados sugieren entonces que para el período de incubación seguido en este estudio, los niveles de crudo empleados no afectan el nitrógeno potencialmente mineralizable pero retardan la tasa de mineralización en suelos con altos contenidos de arcilla.

Por otro lado al evaluar el tiempo de mineralización ( $1/k$ ) dentro de los diferentes grupos de texturas de suelos y tratamientos aplicados, pudo determinarse que con la excepción del suelo arenoso-sabana densa, la adición de crudo incrementa el tiempo de mineralización. Es posible que el tratamiento con crudo en suelos con cierta proporción de partículas finas conduzca a que este contaminante se adsorba sobre estas superficies e inhiba con ello la acción de los microorganismos que intervienen en la mineralización del N. En el suelo de textura arenosa-sabana densa, probablemente el crudo ejerce un menor efecto debido a que no hay superficies que lo retengan. Desafortunadamente no se cuentan con datos de la bibliografía que permitan soportar los resultados de este estudio.



A continuación se presentan los datos de Nitrógeno acumulado (Nm) durante las 12 semanas de incubación, para las distintas zonas de estudio, que representan las distintas texturas, bosque semidecuido – franco arenoso; sabana rala – areno francoso; morichal – arcilloso; sabana densa – arenoso.

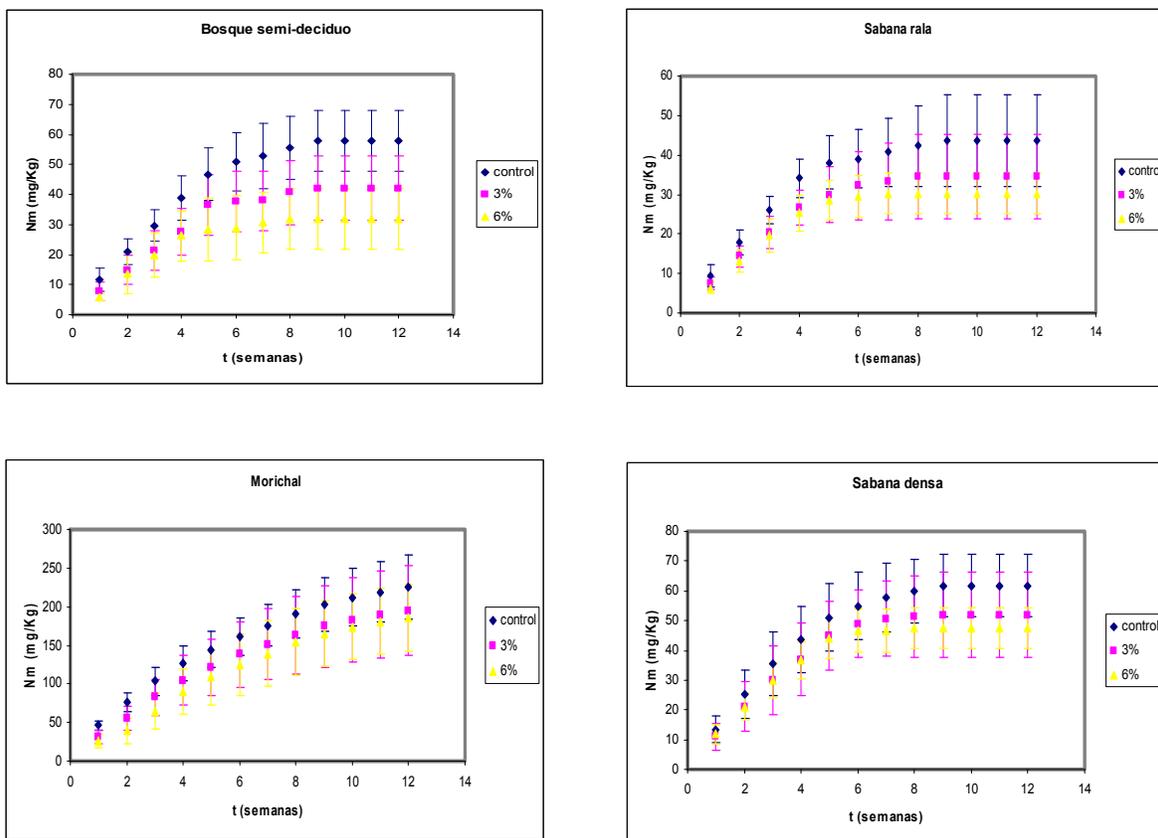


Figura 3 Mineralización neta acumulada de N (Nm) en 12 semanas de incubación para los suelos de diferentes texturas bajo los distintos tipos de tratamiento. Valores representan la media  $\pm$ DS



La mineralización neta de N (Nm) para los diferentes tratamientos y en cada tipo de textura de suelo es mostrada en la figura 3, observándose una tendencia lineal de incremento a medida que se mineraliza el N por semana de incubación; sin embargo, a partir de la semana de incubación #6 se observa que dicho incremento es menor, finalmente para el tiempo de incubación de 8-12 semanas se logró alcanzar la estabilidad o constante en el proceso de mineralización de N.

Los resultados indican que el mayor Nm en los diferentes tratamientos fueron obtenidos en el suelo arcilloso-morichal, en comparación con los resultados de Nm obtenidos de suelos franco arenoso-bosque semideciduo, areno francoso-sabana rala y arenoso-sabana densa; lo cual es un resultado esperado tomando en cuenta que el suelo arcilloso-morichal presenta el mayor contenido de materia orgánica (Tabla 1). Esto concuerda con datos reportados en la literatura para estudios de N mineralizado sin adición de crudo. En los suelos arcillosos-morichal se obtuvo valores de Nm mas altos en comparación con los suelos arenoso-sabana densa y areno francoso-sabana rala (Smith y Stanford, 1971; Motavalli *et al.*, 1989; Serna y Pomares, 1992; Thicke *et al.*, 1993; Mogollon, 1995) Al relacionar esto con las diferentes clases granulométricas puede observarse que en los diferentes grupos de textura de suelo el incremento en el contenido de crudo en el mismo, afectó notablemente el Nm, conduciendo a una disminución en el valor de Nm con el incremento en el porcentaje de crudo. Este resultado sugiere que la adición de crudo está afectando la población de microorganismos que intervienen en el proceso de mineralización, lo cual consecuentemente disminuye el N mineralizado neto.

Madigan *et al.*,(1999) indica que a pesar que la composición de los hidrocarburos es muy variable, en la naturaleza se encuentran como mezclas de diferentes especies moleculares. Estos compuestos afectan varios procesos bioquímicos y ecológicos propios del suelo, ya que los efectos tóxicos producto de



la adición de los hidrocarburos afectan a casi todas las especies del ecosistema edáfico en mayor o menor grado, de forma directa o indirecta. Los parámetros del suelo biomasa microbiana total, pH, actividad enzimática de proteasas y actividad enzimática de ureasas son sensibles a la contaminación por hidrocarburos, y pueden proveer de información valiosa al momento de realizar una evaluación (Fontúrbel, 2004).

Los datos expresados en la Tabla 3 muestran que con la excepción del suelo arenoso-sabana densa, el tratamiento con crudo conduce a un incremento en la relación C/N (índice comúnmente usado en los estudios de mineralización), ver valores de C y N en apéndices B.

Tabla 3. Relación C/N para las distintas texturas y tratamientos con crudo

Textura	Control	3%	6%
Franco arenoso BSd	21,26+/-10,24 <sup>a1</sup>	52,4,+/-23,343 <sup>b1</sup>	18,7,+/-6,736 <sup>a1</sup>
Areno francoso SR	23,35+/-2,31 <sup>a1</sup>	52,14+/-20,08 <sup>b1</sup>	31,38+/-8,23 <sup>a1</sup>
Arcilloso Mo	13,91+/-0,84 <sup>a1</sup>	35,5,+/-5,735 <sup>b1</sup>	35,16+/-9,70 <sup>b1</sup>
Arenoso SD	49,2,+/-16,837 <sup>a2</sup>	45,36+/-16,94 <sup>a1</sup>	48,75+/-35,37 <sup>a1</sup>

Valores representan la media  $\pm$  DS. Dentro de una misma fila diferentes letras minúsculas denota diferencia significativa en la relación C/N en suelos de igual textura con los diferentes tratamientos; diferentes números dentro de una misma columna denota diferencia significativa en la relación C/N en suelos de diferentes texturas a igual tratamiento con crudo. (ANOVA  $P < 0,05$ ). BSd=bosque semidecíduo, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD=sabana densa.

La relación C/N de un sustrato juega un papel regulador en la mineralización de N orgánico (Mulongoy y Gasser, 1993). Cuando la relación C/N es alta (>30:1), la acción de los microorganismos descomponedores puede ser limitada, y ocurre una inmovilización del N en su biomasa. Por el contrario, si la relación C/N es baja (12-20:1), el N no es limitante para la acción de estos



microorganismos, y se produce la mineralización del N inorgánico ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$  y  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ), el cual es liberado a la solución del suelo Vitousek (1982). Este resultado permite explicar entonces la baja mineralización neta de N ( $\text{Nm}$ ) discutida en el punto anterior.

Es importante destacar que durante el desarrollo de este trabajo de investigación, se determinaron especies como  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ , evidenciándose que en los diferentes tratamientos y para los distintos tipos de textura de suelo, la especie predominante fue el  $\text{NH}_4^+$ . Numerosos estudios han indicado que la predominancia de esta especie en suelos ácidos es una consecuencia del efecto Inhibitorio que tiene la acidez del suelo sobre los microorganismos nitrificantes (Poovarodom *et al.*, 1988). Lo cual corrobora los resultados aquí presentados, ya que los suelos empleados para este estudio presentan un pH ácido (Tabla 1).



**Nitrógeno potencialmente mineralizable como un porcentaje del nitrógeno total del suelo para las diferentes texturas de suelo y bajo los distintos tratamientos con crudo**

El N potencialmente mineralizable (%No) como un porcentaje del N total es mostrado en la Tabla 4 para las diferentes texturas de suelo y bajo los diferentes tratamientos con crudo.

Tabla 4. Nitrógeno potencialmente mineralizable como un porcentaje del nitrógeno total del suelo (%No) para las distintas texturas y bajo los diferentes tratamientos con crudo

<b>%No</b>	<b>control</b>	<b>3%</b>	<b>6%</b>
franco arenoso BSd	37,005+/-24,957 <sup>a1</sup>	86,033+/-40,067 <sup>a1</sup>	52,556+/-35,023 <sup>a1</sup>
areno francoso SR	29,961+/-11,265 <sup>a1</sup>	43,155+/-24,546 <sup>a1</sup>	37,394+/-19,543 <sup>a1</sup>
Arcilloso Mo	22,477+/-6,867 <sup>a1</sup>	79,110+/-23,923 <sup>b1</sup>	127,046+/-73,232 <sup>b1</sup>
Arenoso SD	105,827+/-30,264 <sup>a2</sup>	89,765+/-46,935 <sup>a1</sup>	48,202+/-11,652 <sup>b1</sup>

Valores representan la media ± DS. Dentro de una misma fila diferentes letras minúsculas denota diferencia significativa en %No en suelos de igual textura con los diferentes tratamientos; diferentes números dentro de una misma columna denota diferencia significativa en %No en suelos de diferentes texturas a igual tratamiento con crudo. (ANOVA P<0,05). BSd=bosque semidecuido, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD=sabana densa.

Los resultados muestran que para los suelos de textura franco arenoso-bosque semidecuido y areno francoso-sabana rala el %No no varió al aumentar la cantidad de crudo añadido, sin embargo para los suelos de textura arenosa-sabana densa y arcillosa-morichal se observó un efecto de la adición de crudo en el comportamiento de este parámetro.



Para el suelo arcilloso-morichal puede observarse un incremento del % de  $N_o$ , mientras que para el arenoso un descenso. Es ampliamente conocido que la adición de crudo conduce a un incremento significativo en el contenido de carbono orgánico en el suelo. Brock et al., (1997) indican que la adición de hidrocarburos al suelo aumenta la cantidad de carbono disponible en el medio para la actividad metabólica de los microorganismos, destacando que si esto ocurre en lugares donde la concentración de nutrientes inorgánicos como N y P es baja, produce una relaciones C/N y C/P muy altas lo cual es desfavorable para el crecimiento microbiano.

Es muy probable que la cantidad de superficies reactivas en el suelo arcilloso retengan el hidrocarburo, a través de procesos de adsorción (Jury, 1989). Es lógico esperar entonces que el incremento en las dosis de crudo incremente el NT y por consiguiente el porcentaje de N potencialmente mineralizable. En el caso del suelo de textura arenosa, carece de superficies reactivas donde el hidrocarburo no presenta de manera significativa procesos de adsorción y por consiguiente se presenta una disminución en el componente orgánico del suelo. Bajo estas condiciones se esperaría entonces un decrecimiento en el contenido de NT y por consiguiente del N potencialmente mineralizable. Los resultados obtenidos con los suelos de textura media (bosque semideciduo y sabana rala) parecen indicar que la proporción de limo y arcilla en estos suelos ejerce un efecto regulador de los contenidos de C y N en el suelo. Sin embargo debido a la carencia de bibliografía en este tópico, se hace difícil soportar las hipótesis aquí planteadas.



### Correlación Nitrógeno acumulado (Nm) y %CT.

En este estudio se determinaron altas y positivas correlaciones entre el Nm y el carbono orgánico del Suelo (COS) para las distintas muestras a los diferentes tratamientos con crudo (Tabla 5).

Tabla 5. Datos de las correlaciones de Nm y el %CT

Suelo	Tratamiento	R <sup>2</sup>
Franco arenoso BSd	Control	0,9457
	3%	0,8032
	6%	0,8967
Areno francoso SR	Control	0,9384
	3%	0,7579
	6%	0,8746
Arcilloso Mo	Control	0,7102
	3%	0,8834
	6%	0,9741
Arenoso SD	Control	0,7876
	3%	0,8376
	6%	0,8807

Valores representan el  $r^2$  para las muestras de suelo de distintas texturas a los diferentes tratamientos con crudo (Apendice B) BSd=bosque semidecuido, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD=sabana densa.

Estos resultados sugieren que para los cuatro tipos de texturas evaluados en este estudio, la mineralización del N está en su mayor parte explicada por el contenido de COS.

Es conocido que suelos arcillosos presentan un mayor contenido de materia orgánica (MO) que los suelos arenosos (Jenkinson, 1988; Amato y Ladd, 1992; Hassink, 1994). Estas diferencias resultan de la alta protección que ejercen las superficies minerales a la MO contra la biodegradación (Van Veen y Kuikman, 1990). Esta protección ocurre cuando la MO es adsorbida sobre la superficie de las partículas de arcilla y limo, o cuando es "incrustada" o recubierta por los minerales de arcilla (Tisdall y Oades, 1982; Golchin *et al.*, 1994) o cuando se localiza dentro de los micro-agregados, fuera del alcance de los microorganismos



(Elliott y Coleman, 1988). Todos estos mecanismos afectan la tasa de mineralización de N (Ladd *et al.*, 1981, 1985; Amato y Ladd, 1992; Juma, 1993; Ladd *et al.*, 1993; Skjemstad *et al.*, 1993).



## Conclusiones

- Independientemente del tipo de textura del suelo en bosques semidecíduos, sabanas (rala - densa) y morichales, la adición de niveles basales de crudo condujeron a una disminución en la mineralización neta de N en el suelo, pero no en el N potencialmente mineralizable.
- Aún cuando no fue observado un decrecimiento en la tasa de mineralización en los suelos de textura media (sabana rala y bosque semidecíduo) y textura gruesa (sabana arbustiva densa), la adición de crudo condujo a un decrecimiento en el tiempo de mineralización ( $1/k$ ).
- El alto contenido de superficies adsorbentes en el suelo arcilloso-morichal conduce a una mayor retención del hidrocarburo, inhibiendo con ello la actividad de los microorganismos y por consiguiente de la tasa de mineralización ( $k$ ).
- El N potencialmente mineralizable como un porcentaje del NT mostró un patrón diferente de acuerdo al tipo de textura de suelo; en el suelo arcilloso-morichal este parámetro incrementó, en el arenoso-sabana densa decreció y en los suelos de textura media-sabana rala y bosque semidecíduo permaneció igual.
- En el suelo arcilloso-morichal la retención del hidrocarburo incrementa el sustrato orgánico y por consiguiente el N potencialmente mineralizable.



- 
- En el suelo arenoso-sabana densa la falta de superficies que retengan el componente orgánico conduce a un decrecimiento en el sustrato a mineralizar y por consiguiente el N potencialmente mineralizable disminuye.
  - En el área de estudio los morichales están desarrollados sobre suelos de textura arcillosa por lo que serían los ecosistemas más afectados ante una contingencia por derrame de crudo.



---

---

## Recomendaciones

- Realizar estudios con tratamientos crudo-suelo como los aquí propuestos, que permitan identificar las implicaciones de niveles basales de crudo en parámetros biológicos (Nitrógeno en biomasa microbiana) y bioquímicos (enzimas como ureasa y proteasa) involucrados en el ciclo del N en el suelo.
- Realizar estudios de adsorción de amonio con tratamientos crudo-suelo como los aquí propuestos, con el propósito de evaluar el efecto de este proceso en la mineralización de N.
- Realizar estudios mineralógicos (DRX) con el fin de determinar el tipo de arcillas presentes en el suelo y su posible relación con la mineralización de N.



---

---

## Bibliografía

- ACHÁ, D. y F. FONTÚRBEL. 2000. Efectos del petróleo y sus derivados sobre los microorganismos del suelo. La Paz, p. Inédito.
- ALEXANDER, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
- AMATO, M. AND LADD, J. N. 1992. Decomposition of <sup>14</sup>C-labelled glucose and legume material in soils: Properties influencing the accumulation of organic residue C and microbial biomass C. Soil Biol. Biochem. 24:455-464.
- AYANS J. E. 1975. Salt transport in irrigated soils, Ph.D. Dissertation, Colorado Estate University., USA.
- BABBAR, L.L AND ZAK, D.R. 1994. Nitrogen cycling in coffee agroecosystem: Net N mineralization and nitrification in the presence and absence of shade trees. Agriculture, ecosystems and environment. 48:107-113.
- BARCELONA, M.; A. WEHRMANN; J. F. KEELY AND W. A. PETTYJOHN. 1990. Contamination of Groundwater Prevention Assessment, Restoration. Noyes Data Corporation. New Jersey.
- BARRIOS, E AND HERRERA, R. 1994. Nitrogen cycling in a Venezuelan Tropical Seasonally Flooded Forest: Soil Nitrogen Mineralization and Nitrification. Journal of Tropical Ecology. 10:399-416.
- BIRCH, H.F. 1960. Nitrification in soils after different periods of dryness. Plant Soil 7:81-96.



- 
- BIRCH, H.F. 1964. Mineralization of Nitrogen following alternate wet and dry conditions. *Plant and soil*. 20:43-49
- BRAMLEY, R.G AND WHITE, R.E 1990. The variability of nitrifying activity in field soils. *Plant and soil*. 126:203-208
- BREMNER, J.M. 1965. Organic forms of nitrogen. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2* (C.A. Black et al., ed.). Agron. Monogr. 9. American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 1238-1255.
- BROCK TD, MADIGAN MT. 1997. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall.
- CARBÓN J. AND SCHUBERT C. 1994. Late Cenozoic history of the eastern Llanos of Venezuela: Geomorphology and stratigraphy of the Mesa Formation. *Quatern. Int.* 21: 91-100
- CHACÓN. N, DEZZEO.N y SAÚL. F. 2007. Caracterización florística, estructural, edafológica y de actividad enzimática de los bosques, morichales y sabanas ubicados en el área comprendida entre los ríos Sariapo y Ature, en el sur del Estado Anzoátegui. 36 p.
- CHEN, M., AND M. ALEXANDER. 1973. Survival of Soil bacteria during prolonged desiccation. *Soil. Biol. Biochem.* 5: 213-221.
- COLEMAN N.T., WEED S.B. & MCCRACKEN R.J. 1959. Cation exchange capacity and exchangeable cations in Piedmont soils of North Carolina. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 23: 146-149



- 
- DAY P.R. 1965. Particle fractionation and particle size analysis In: Black C.A. (ed.). Methods of Soil Analysis. Part I. Agronomy 9: 545-567
- DONAHUE, R.L., R.W. MILLAR y J.C. SHICKLUNA. 1981. Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas. Prentice Hall. Madrid, España. 624 p.
- EDWARDS, A.C., AND M.S. CRESSER. 1992. Freezing and its effect on chemical and biological properties of soil. Adv. Soil Sci. 18:59-79.
- ELLIOTT, E. T. AND COLEMAN, D. C. 1988. Let the soil work for us. Ecological Bulletins 39:23-32.
- FASSBENDER, H. 1980. Química de Suelos con énfasis en suelos de América Latina. San José, Costa Rica, I.I.C.A. 398 p.
- FONTÚRBEL F.R. 2004. Uso de algunos parámetros indicadores microbiológicos y bioquímicos para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos y la biodegradación de los mismos, en la zona del lago titikaka (San Pedro de Tiquina, Bolivia). Ecología aplicada, 3(1,2), 2004. issn 1726-2216. Depósito legal 2002-5474
- FRANCO, A.A AND MUNNS, D.N. 1982. Plant assimilation and nitrogen cycling. Plant and soil. 67: 1-13.
- GARDINER L. (*Pág creada el 10 de enero de 2005*). Fuente de este material es *Windows to the Universe (Ventanas al Universo)*, en <http://www.windows.ucar.edu/> de University Corporation for Atmospheric Research (UCAR). © Los Regentes de la Universidad de Michigan.
- GOLCHIN, A.; OADES, J. M.; SKJEMSTAD, J. O. AND CLARKE, P. 1994. Soil structure and carbon cycling. Aust. J. Soil Res. 32:1043-1068.



- HASSINK, J. 1994. Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1221-1231.
- HUBER, O. Y ALARCÓN C. 1988. Mapa de Vegetación de Venezuela. 1:2.000.000. Caracas:MARNR, The Nature Conservancy.
- JACKSON, M. 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J.
- JANSSON S.L. AND PERSSON J. 1982. Mineralization and immobilization of soil nitrogen. In: *Nitrogen in agricultural soils*. (F.J. Stevenson, Ed.) Madison, Wisconsin, 22, pp. 229-252.
- JENKINSON, D.S. 1988. Soil organic matter and its dynamics. In: Wild, A. (Ed.). *Russel's soil conditions and plant growth*. 11th ed. Longman. New York, USA. p. 564-607.
- JUMA, N. G. 1993. Interrelationships between soil structure/texture, soil biota/soil organic matter and crop production. *Geoderma* 57:3-30.
- JURY, W. A. 1989. *Chemical Movement through Soil. Vadose Zone Modeling of Organic Pollutants*. Stephen C. Hern, Susan M. Melancon. Lewis Publishers Inc. USA.
- KEENEY D.R., NELSON D.W. 1982. Nitrogen: Inorganic forms. In: Page A.L., et al. , ed. *Methods of soil analysis*. Part 2, 2nd ed Madison, WI: ASA and SSSA, 1982:643-698 *Agron. Monogr.* 9.



- KELLY K.R. AND STEVENSON F.J. 1987. Effects of carbon source on immobilization and chemical distribution of fertilizer nitrogen in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51,946-951.
- KOWALENKO, C.G; IVARSON, K.C. AND CAMERON, D.R. 1978. Effect of moisture content, temperature and nitrogen fertilization on carbon dioxide evolution from field soils. *Soil Biol. Biochem.* 10:417-423.
- LADD J.N; OADES J.M AND AMATO M. 1981. Distribution and Recovery of Nitrogen for legume residues decomposing in soils sown to wheat in the field. *Soil Biol. Biochem.* 12:251-256.
- LADD, J. N.; FOSTER, R. C. AND SKJEMSTAD, J. O. 1993. Soil structure: Carbon and nitrogen metabolism. *Geoderma* 56:401-434.
- LABUD V. GARCÍA C. AND HERNÁNDEZ T. 2007. Effect of hydrocarbon on the microbial properties of a sandy and clay soil. *Chemosphere* 66: 1863-1871
- LUTHY, R. G., G. R. AIKEN, M. L. BRUSSEAU, S. D. CUNNINGHAM, P. M. GSCHWEND, J. J. PIGNATELLO, M. REINHARD, S. J. TRAINA, W. J. WEBER JR. AND J. C. WESTALL. 1997. Sequestration of Hydrophobic Organic Contaminants by Geosorbents. *Environmental Science & Technology.* 31:3341-3347.
- MCLEAN. E.O. 1965. Aluminium. In: Black C.A. (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Agronomy* 9: 985-994
- MADIGAN M., MARTINKO J. & PARKER J. 1999. Brock: *Biología de los microorganismos.* 8ª edición. Prentice Hall, Madrid. : 150-155, 405-408, 465,523-524, 582-584, 698, 712-713, 774-777.



- MADRID F., LÓPEZ F., CABRERA F. AND MURILLO J.M. 2001. Nitrogen mineralization for assessing the correct agricultural use of MSW compost. Proceeding of the Internacional Conference Organic Recovery and Biological Treatment 2001, I, Sevilla (España), 121-127.
- MAIMONE, R.A.; MORRIS, L.A. AND FOX, T.R. 1991. Soil nitrogen mineralization potential in a fertilized loblolly pine plantation. Soil Sci. Soc. Am. J. 55: 522-527.
- MAMO, M; TAYLOR, W.R. AND SHUFORD, W.J.1993. Ammonium fixation by soil and pure clay minerals. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 24:1115-1126.
- MARTÍN. J.V, MIRALLES DE IMPERIAL . R, BELTRÁN. E. M, PORCEL. M. A, BERINGOLA. M. L, CALVO. R Y DELGADO. M. D. 2006. Mineralización del nitrógeno contenido en el lodo de depuradora secado térmicamente. 9 p.
- MELILLO, J.M; ABER, J.D AND MURATORE, J.F. 1982. Nitrogen and Lignin Control of Hardwood Leaf Litter Decomposition Dynamics. Ecology 63 (3): 621-626.
- MOGOLLÓN, J. P. 1995. Mineralización potencial del Nitrógeno en suelos de cafetales bajo diferentes árboles de sombra (cítricos y leguminosas), ubicados en el sector San Diego, Estado Falcón. 57 p.
- MOTAVALLI, P.P KELLING, K.A AND CONVERSE, J.S. 1989. First-Year Nutrient availability from injected Dairy Manure. J. Environ. Qual. 18:180-185.



- MULONGOY, K AND GASSER, M.O. 1993. Nitrogen-supplying capacity of leaves of *Dactyladenia barteri* (Hook ex olw) and *Leucaena leucocephala* (Lam.) the wit in two soils of different acidity from southern Nigeria. *Biol. Fertil. Soils.* 16:57-62.
- MURPHY J & RILEY JP. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27:31-36
- PALM C.A AND SÁNCHEZ, P.A. 1991. Nitrogen Release from the Leaves of some Tropical Legumes as affected by their Lignin and Polyphenolic Contents. *Soil Biol. Biochem.* 23:83-88.
- PERSSON, T. AND WIREN, A. 1995. Nitrogen mineralization and potential nitrification at different depths in acid forest soils. *Plant and Soil.* 168-169:55-65.
- POOVARODOM S., TATE III R.L., BLOOM R.A., 1988. Nitrogen mineralization rates of the acidic xeric soils of the New Jersey pinelands: field rates. *Soil Sci.*, 1455, 257-263.
- RANGEL. M, CHACON. N y FLORES. S. 2007. Mineralización de nitrógeno en el suelo de dos bosques de contrastante intensidad de inundación. Efecto de la condición redox y la época de muestreo. Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. 4 p.
- ROBERTSON, G.P. 1984. Nitrification and nitrogen mineralization in a loland rainforest succession in Costa Rica, Central America. *Oecologia.* 61:99-104
- ROSWALL, T. 1982. Microbiological Regulation of the Biogeochemical Nitrogen Cycle. *Plant and Soil.* 67:15-34.



- ROSS, D.J. 1991. Microbial biomass in a stored soil: A comparison of different estimation procedures. *Soil Biol. Biochem.* 23:1005–1007.
- SÁNCHEZ, P.A. 1976. Properties and management of soils in the tropics. A Wiley-Interscience Publication. New York: 618 p.
- SCHERR K, AICHBERGER H., BRAUN R. AND LOIBNER A.P. 2007. Influence of soil fractions on microbial degradation behavior of mineral hydrocarbons. *European Journal of Soil Biology* 1-10
- SENEVIRATNE G., VAN HOLM L.H.J, BALACHANDRA L.J.A AND KULASOORIYA S.A. 1999. Differential effects of soil properties on leaf nitrogen release. *Biol. Fertil. Soils*, 28, 238-243.
- SERNA, M.D AND POMARES, F. 1992. Evaluation of chemical indices of soil organic nitrogen availability in calcareous soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1486-1491.
- SKJEMSTAD, J.O.; JANIK, L. J.; HEAD, M. J. AND MCCLURE, S. G. 1993. High energy ultraviolet photo-oxidation: a novel technique for studying physically protected organic matter in clay and silt-sized aggregates. *J. of Soil Sci.* 44:485-499.
- STANDFORD, G. AND S.J. SMITH. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 36: 465-472.
- STEVENSON. F.J. 1986. Nitrogen as a plant nutrient. In: *Cycles of soil*. John Wiley & Sons. p 112-115.
- SWIFT, M.J, HEAL, O.W AND ANDERSON, J.M. 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. *Studies in Ecology Vol. 5*. Blackwell Sci. Publ. Oxford.



- TAMM, C.O. 1991. Nitrogen in terrestrial ecosystems. Questions of productivity, vegetation changes, and ecosystem stability. Ecological Studies 81. Springer-Verlag, New York. 116 p.
- THICKE, F.E, RUSSELLE, M.P, HESTERMAN, O.B AND SHEAFFER, C.C. 1993. Soil nitrogen mineralization indexes and corn response in crop rotations. Soil Science. 156: 322-335.
- THOMAS G.W. 1982. Exchangeable cations In: Page A.L., Millar R.H. & Keeny D.Y. (eds.) Methods of Soil Analysis (2<sup>nd</sup>. Ed.) Part 2. Agronomy, 9: 159-166
- TIESSEN H., STEWART J.W.B. & MOIR J.O. 1983. Changes in organic and Pi composition of two grassland soils and their particle size fractions during 60-90 years of cultivation. J Soil Sci. 34:815-823
- TRAUTMANN, N.M , PORTER, K.S AND WAGENET, R. J . 1990. Nitrogen: The Essential Element. Natural resources cornell cooperative extension. New York State College of Agriculture and Life Sciences.  
<http://pmep.cce.cornell.edu/facts-slides-self/facts/nit-el-grw89.html>.
- TISDALL, J. M. AND OADES, J. M. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. J. Soil. Sci. 33: 141-163.
- VAN GESTEL, M., J.N. LADD, AND M. AMATO. 1991. Carbon and nitrogen mineralization from two soils of contrasting texture and microaggregate stability: Influence of sequential fumigation, drying and storage. Soil Biol. Biochem. 23:313–322.



- 
- VAN VEEN, J. A. AND KUIKMAN, P. J. 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeochemistry* 11: 213-233.
- VEGAS-VILARRÚBIA T. AND HERRERA R. 1993. Effects of periodic flooding on the water chemistry and primary production of the Mapire systems (Venezuela). *Hydrobiologia* 262: 31-42
- VITOUSEK, M.P. 1982. Nutrient Cycling and Nutrient use efficiency. *Am. Nat.* 119:553-572.
- WADE, M.K AND SÁNCHEZ, P.A. 1983. Mulching and green manure applications for continuous crop production in the Amazon Basin. *Journal of Agronomy.* 75:39-45.
- WANG. W, SMITH C.J., CHALK. P.M AND CHEN. D. 2001. Evaluating Chemical and Physical Indices of Nitrogen Mineralization Capacity with an Unequivocal Reference. *Soil Science Society of America Journal* 65:368-376.



## Apéndice A

### Ecuaciones para calcular la mineralización de nitrógeno

1.- Concentración de nitrógeno:

$$\text{Abs} = m \cdot X + b$$

$$X = (\text{Abs} - b) / m$$

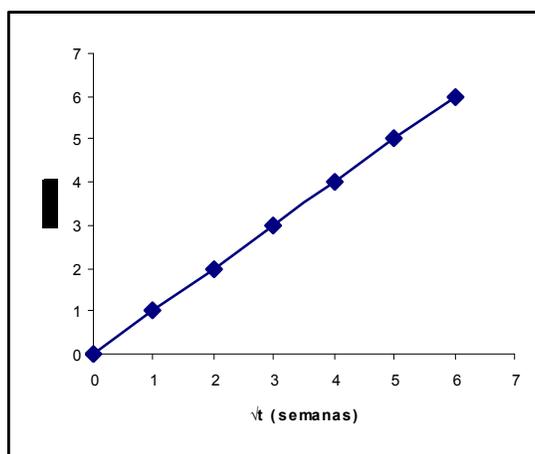
$$[\text{N}] = \text{PMN} / \text{PM NH}_4^+$$

m = pendiente

b = punto de corte

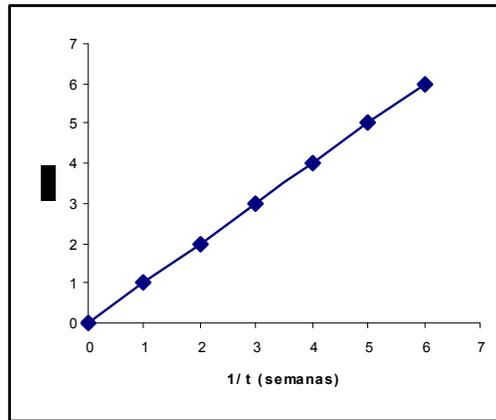
2.- Nitrógeno acumulado

En la sumatoria del N neto de cada semana de incubación y se representa por la siguiente grafica:



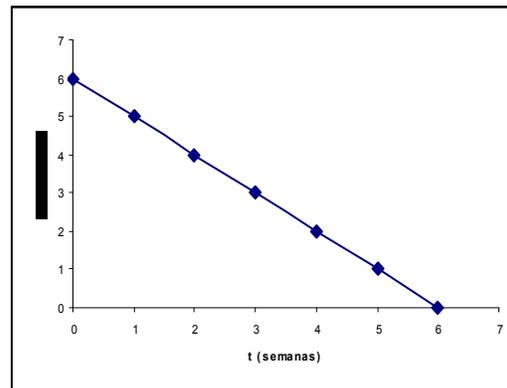


### 3.- Nitrógeno potencialmente mineralizable (No)



$$No = 1/b$$

### 4.- Constante de mineralización (k)



$$K = m * 2,303$$

$$\% MO = 10(1 - (T/S)) \times 1,34$$

$$\%C = \%MO/1,72$$

#### Donde

S: titulación del blanco, mL solución ferrosa

T: titulación de la muestra, mL solución ferrosa

1,72 = constante

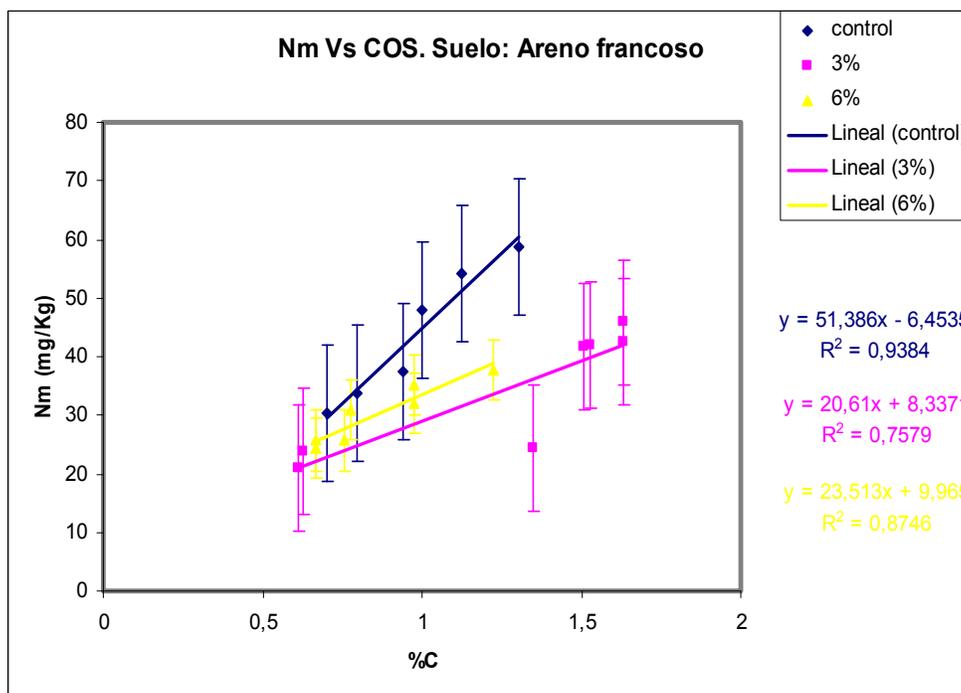
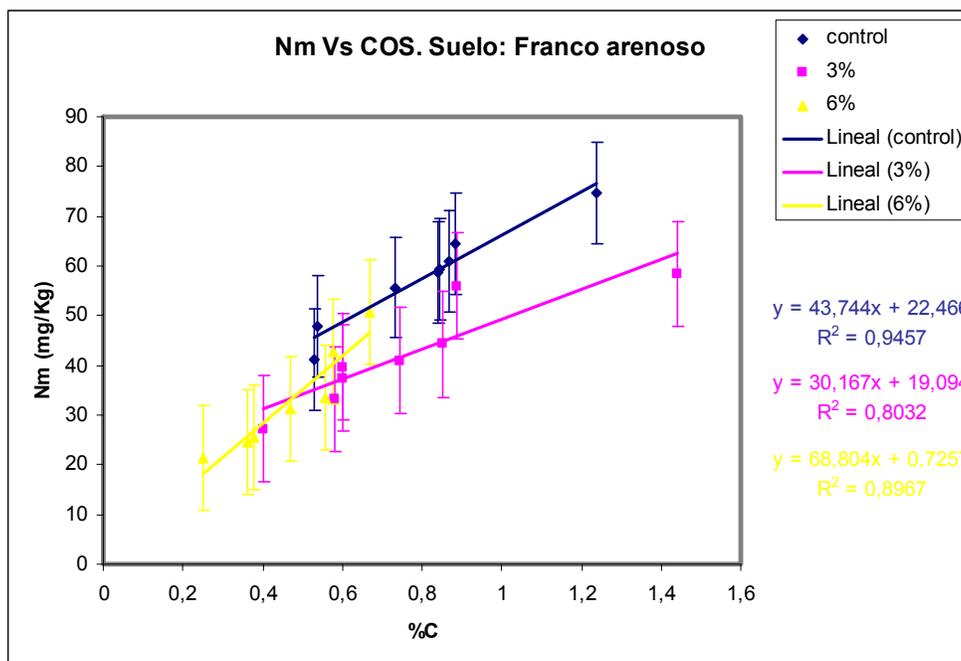
El factor 1.34 es derivado de:

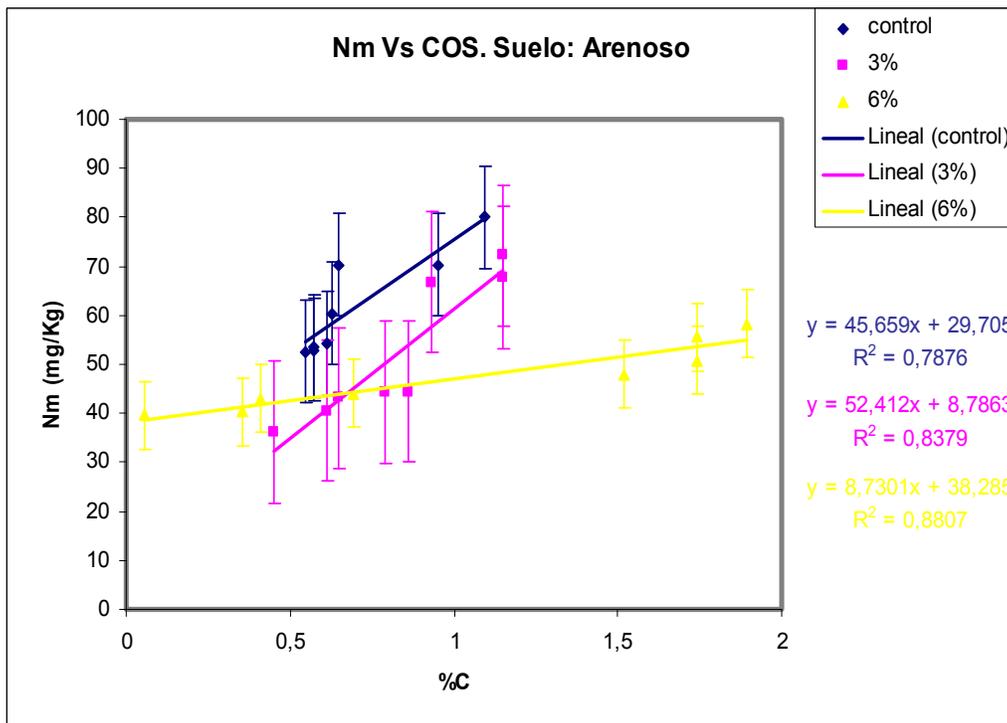
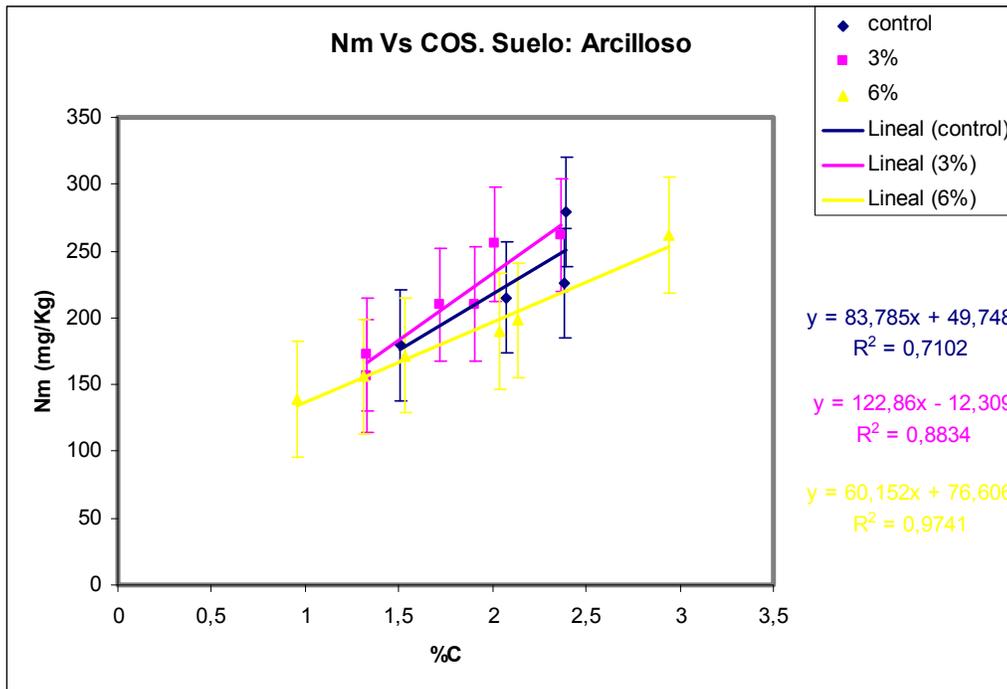
$$(1,0 N) \times (12/4000) \times (1,72/0,77) \times (100/0,5) = 1,34$$



## Apéndice B

Correlación Nitrógeno acumulado (Nm) y %C.







Valores de %C para las distintas muestras con los tratamientos con crudo.

Suelo	Tratamiento	%C
Franco arenoso BSd	Control	0,81+/-0,23 <sup>a1</sup>
	3%	0,76+/-0,32 <sup>a1</sup>
	6%	0,47+/-0,14 <sup>a1</sup>
Areno francoso SR	Control	0,98+/-0,22 <sup>a1</sup>
	3%	1,27+/-0,45 <sup>a1</sup>
	6%	0,86+/-0,20 <sup>a1</sup>
Arcilloso Mo	Control	2,09+/-0,42 <sup>a2</sup>
	3%	1,78+/-0,41 <sup>a2</sup>
	6%	1,82+/-0,71 <sup>a2</sup>
Arenoso SD	Control	0,70+/-0,20 <sup>a1</sup>
	3%	0,82+/-0,25 <sup>a1</sup>
	6%	1,05+/-0,75 <sup>a1</sup>

Valores representan la media  $\pm$  DS. Dentro de una misma columna diferentes letras minúsculas, números, denota diferencia significativa en el %C en los suelos a los diferentes tratamientos. (ANOVA  $P < 0,05$ ). BSd=bosque semideciduo, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD=sabana densa.

Nitrógeno total (NT) para las distintas texturas - tratamiento con crudo variable.

Suelo	Tratamiento	NT
Franco arenoso BSd	Control	442,07+/-186,41 <sup>a1</sup>
	3%	148,21+/-26,50 <sup>b1</sup>
	6%	254,76+/-42,00 <sup>a1</sup>
Areno francoso SR	Control	398,33+/-87,66 <sup>a1</sup>
	3%	245,40+/-23,93 <sup>b1</sup>
	6%	286,44+/-81,64 <sup>a1</sup>
Arcilloso Mo	Control	1511,99+/-219,58 <sup>a2</sup>
	3%	468,72+/-64,87 <sup>b2</sup>
	6%	546,49+/-126,73 <sup>a2</sup>
Arenoso SD	Control	152,00+/-47,12 <sup>a1</sup>
	3%	187,08+/-26,95 <sup>b1</sup>
	6%	220,92+/-32,65 <sup>a1</sup>

Valores representan la media  $\pm$  DS. Dentro de una misma columna diferentes letras minúsculas denota diferencia significativa en No y NT en suelos de igual textura con los diferentes tratamientos y diferentes números dentro de una misma columna denota diferencia significativa en No y NT en suelos de diferentes texturas a igual tratamiento con crudo. (ANOVA  $P < 0,05$ ). BSd=bosque semideciduo, SR=sabana rala, Mo=morichal, SD=sabana densa.